

**Univerzita Karlova**  
**2. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



**Role metody PCR v diagnostice neuroinfekcí  
vyvolaných herpetickými viry**

**MUDr. Klára Labská**

Praha (2020)

**Doktorské studijní programy v biomedicíně**  
*Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky*

Obor: Preventivní medicína

Předseda oborové rady: doc. MUDr. Alexander M. Čelko, CSc.

Školící pracoviště: Klinika infekčních nemocí 2. LF UK a  
Nemocnice Na Bulovce

Autor: MUDr. Klára Labská

Školitel: doc. MUDr. Vilma Marešová, CSc.

Konzultant: RNDr. Kateřina Roubalová, CSc.

Oponenti:

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba se koná dne: .....v .....hod.  
kde: .....

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy.

# **Obsah**

Abstrakt.....	4
Abstract.....	5
1. Úvod.....	6
2. Hypotézy a cíle práce.....	7
3. Materiál a metodika.....	7
Studie č.1 Přítomnost DNA neurotropních herpetických virů u pacientů s nehnisavým zánětem CNS známé etiologie.....	7
Sledované parametry.....	8
Laboratorní metody.....	8
Statistické vyhodnocení.....	8
Studie č. 2 Výskyt HSV 1 DNA v mozkomíšním moku u pacientů s výsevem herpes labialis.....	9
Laboratorní metody.....	9
4. Výsledky.....	9
Studie č.1 Přítomnost DNA neurotropních herpetických virů u pacientů s nehnisavým zánětem CNS známé etiologie.....	9
Studie č.2 Výskyt HSV 1 DNA v mozkomíšním moku u pacientů s výsevem herpes labialis.....	15
5. Diskuse.....	15
6. Závěry.....	17
7. Použitá literatura.....	19
Seznam publikací doktoranda.....	23

## **Abstrakt**

Diagnostika neuroinfekcí prodělává v posledních letech příklon k molekulárně biologickým metodám. Náš výzkum se soustředil na význam přítomnosti DNA neurotropních herpetických virů (HSV1, HSV2, VZV a HHV6) v mozkomíšním moku.

V první studii jsme sledovali přítomnost DNA neurotropních herpetických virů (HV) v mozkomíšním moku u imunokompetentních pacientů s laboratorně potvrzenou klíšťovou meningoencefalitidou a enterovirovou meningitidou a meningoencefalitidou. Kontrolní skupinu tvořili pacienti shodné věkové struktury bez prokázaného zánětu v mozkomíšním moku. Pacienti byli sledováni po dobu 6 měsíců. Průběh onemocnění a jeho následky včetně laboratorních vyšetření byly porovnány mezi skupinami pacientů s prokázanou a bez prokázané HV DNA.

V druhé studii jsme prokazovali přítomnost HSV1 DNA v mozkomíšním moku u pacientů s purulentní meningitidou, u kterých byl průběh onemocnění komplikován výsevem herpes labialis.

V našem souboru imunokompetentních pacientů s nehnisavým zánětem v mozkomíšním moku jsme detekovali HV DNA virů u 13 ze 173 pacientů (7,5 %), zachytili jsme i DNA dvou herpetických virů současně. Podíl pacientů se zánětem CNS vyvolaným klíšťovou meningoencefalitidou a detekovanou HV DNA tvořil 7,3 % (7 z 96) a nejčastěji byl detekován virus VZV. V souboru pacientů s enterovirovou meningitidou a meningoencefalitidou byl podíl pacientů s HV DNA 7,8 % (6 ze 77) a nejčastěji byla detekován virus HHV6. Záchyt HV DNA nebyl asociován se závažným klinickým průběhem onemocnění. Příčinou přítomnosti HV DNA je nejspíše reaktivace HV při zánětech, což potvrzuje minimální záchyt HV DNA u pacientů bez zánětlivého cytologického nálezu v mozkomíšním moku.

HSV1 DNA v mozkomíšním moku při periferní reaktivaci jsme detekovali pouze u jedné pacientky s významným imunodeficitem.

Metody založené na amplifikaci nukleových kyselin jsou v současnosti hlavním diagnostickým vodítkem, proto mohou nálezy DNA neurotropních herpetických virů v mozkomíšním moku činit diagnostické obtíže. Výsledek těchto vyšetření je vždy interpretovat s ohledem na klinický stav pacienta, anamnézu a výsledky dalších vyšetření.

## ***Abstract***

In recent years, the diagnosis of neuroinfections has undergone a shift towards molecular biology methods. Our research focused on the predictive value of the capture of herpesvirus (HV) DNA in cerebrospinal fluid. In the first study, we examined the presence of DNA neurotropic herpes viruses (HSV1, HSV2, VZV and HHV6) in cerebrospinal fluid in immunocompetent patients with laboratory-confirmed tick-borne meningoencephalitis and enterovirus meningitis and meningoencephalitis. The control group consisted of patients with proven absence of an inflammation in the cerebrospinal fluid. Patients were followed for 6 months. The course of the disease and its consequences, including laboratory tests, were compared between groups of patients with and without the presence of HV DNA. In the second study, we tried to demonstrate the presence of HSV1 DNA in cerebrospinal fluid during its symptomatic reactivation in patients with purulent meningitis. In our group of immunocompetent patients with non-purulent inflammation in the cerebrospinal fluid, the proportion of HV DNA positive patients reached 7.5% (13 out of 173), we also captured the DNA of two herpes viruses simultaneously. The proportion of patients with CNS inflammation caused by tick-borne meningoencephalitis with detected DNA from neurotropic herpes viruses was 7.3 % (7 out of 96), with VZV DNA being the most abundant. In the group of patients with enterovirus meningitis and meningoencephalitis, the proportion of patients with HV DNA was 7.8% (6 out of 77) with HHV6 DNA being the most frequent. HV DNA positivity was not associated with severe course of the disease. The reason for HV DNA positivity is probably HV reactivation under inflammatory conditions, which is supported by the minimal capture of HV DNA in patients without inflammatory cytological findings in cerebrospinal fluid. We detected HSV1 DNA in cerebrospinal fluid during its peripheral reactivation in only one patient with significant immunodeficiency. Since nucleic acid amplification-based methods are currently the main diagnostic tool, the detection of the DNA of neurotropic herpes viruses in cerebrospinal fluid can cause diagnostic difficulties. The result of these examinations should always be interpreted in comprehensive manner with regard to the patient's clinical condition, history and the results of other examinations.

## 1. Úvod

Na přelomu tisíciletí došlo k revoluci ve virologické diagnostice. Do rutinního používání byly postupně zavedeny metodiky amplifikace virových nukleových kyselin (NAAT) a marginizovaly kultivační metody, které byly do té doby považovány za zlatý standard. NAAT výrazně zrychlily diagnostiku, ukázaly se jako senzitivní i specifické jak pro diagnostiku, tak i monitoring léčby řady virových onemocnění. Rozmach těchto metod přinesl také řadu specifických problémů, z nichž řada není uspokojivě vyřešená dodnes.

Všechny herpetické viry mohou za specifických podmínek vyvolat systémové onemocnění včetně infekce centrálního nervového systému (CNS), a to jak při primoinfekci, tak při reaktivaci i reinfekci. Obecně se soudí, že herpetické viry vyvolávají 5-10 % nehnisavých zánětů CNS (Cinque P. et al., 2003; O'Sullivan C. et al., 2003; De Biasi R., Tyler K., 2004). Neurotropismus je akcentovaný zejména u podčeledi Alfaherpesviridae, kde hlavním místem latence jsou pseudounipolární neurony sensorických ganglií, ale virový genom byl detekován i u cca 20 % populace v bílé i šedé hmotě mozkové (Theil D. et al., 2004; Chan P. et al., 1999; Liedtke W. et al., 1993).

Nejrozšířenějšími metodami současnosti pro rutinní diagnostiku herpetických neuroinfekcí jsou metody amplifikace nukleových kyselin (NAATs). S nástupem využíváním těchto vysoce citlivých metod se začaly v literatuře objevovat zmínky o atypickém průběhu onemocnění (Davies N. et al., 2005), mírnějších formách (O'Sullivan C. et al., 2003; Simko J. et al., 2002) a koinfekcích spojených s nálezem DNA více herpetických virů v mozkomíšním moku (Tang Y. et al., 1999). Objevily se nové nosologické jednotky, jako zoster sine herpette (Gilden D. et al., 2009). Dokonce byly odhaleny záchyty DNA herpetických virů v mozkomíšním moku, kdy nález neodpovídal klinickému obrazu zánětu CNS (Davies N. et al., 2005).

V rámci pilotní studie retrospektivní analýzou zdravotnické dokumentace na pracovišti Infekční kliniky FN Bulovka jsme v pacientů, u kterých byla provedena diagnostika přítomnosti DNA heretických virů v mozkomíšním moku v letech 1998-2003 odhalili případy zánětů CNS, kdy byla v mozkomíšním moku zjištěna DNA herpetických virů, i když klinický i laboratorní nález odpovídal spíše jiné etiologii onemocnění (2x klíšťová meningoencefalitida, 1x lymeská borrelióza, 1x purulentní meningitida) (Šoltysová K. et al., 2005).

Tyto nálezy přináší otázky správné interpretace záchyty DNA ubikvitních patogenů s místem latence v nervovém systému.

## **2. Hypotézy a cíle práce**

Cílem této práce bylo odpovědět na otázky:

- Jak častý je nález DNA neurotropních herpetických virů HSV1, HSV2, VZV a HHV6 při nehnisavých zánětech CNS v mozkomíšním moku u pacientů, kde byla určena jiná etiologie zánětu než infekce herpetickými viry.
- Pokud byla DNA herpetických virů v MM pacientů s aseptickým zánětem jiné než herpetické etiologie zachycena, tak zda tento nález a je klinicky významný pro pacienta.
- Jestli je přítomna HSV DNA v MM pacientů s klinicky manifestovanou reaktivací tohoto viru na periférii (výsev herpes labialis)

## **3. Materiál a metodika**

### Studie č.1 Přítomnost DNA neurotropních herpetických virů u pacientů s nehnisavým zánětem CNS známé etiologie

Prokazovali přítomnost DNA neurotropních herpetických virů (HSV1, HSV2, VZV, HHV6) u pacientů s nehnisavým zánětem CNS známé etiologie. Charakterizovali jsme průběh onemocnění a závažnost trvalých následků u skupiny pacientů s pozitivním záchytem DNA herpetických virů v mozkomíšním moku (MM). Klinické parametry onemocnění jsme porovnali se skupinou pacientů se stejným onemocněním, kde přítomnost DNA těchto virů byla stejným vyšetřením vyloučena. Četnost záchytu DNA herpetických virů v MM u pacientů s nehnisavým zánětem CNS známé etiologie byla porovnána s četností záchytu v MM u kontrolní skupiny pacientů bez zánětlivého cytologického nálezu v mozkomíšním moku.

Do studie bylo začleněno 77 pacientů s laboratorně potvrzenou enterovirovou meningitidou či meningoencefalitidou a 96 pacientů s klíšťovou meningoencefalitidou. Začlenění byli pouze imunokompetentní pacienti (bez anamnestického údaje o imunodeficitu či HIV pozitivitě, bez nádorového onemocnění, bez imunosupresivní terapie). Biologický materiál byl získán při rutinních odběrech, studie byla provedena se souhlasem etické komise FNB (č.j. 40/EK-Z).

Skupinu 77 pacientů s enterovirovou meningitidou tvořilo 43 mužů a 34 žen (věkový průměr 13,3 let, medián 12 let, věkové rozmezí 2 roky až 48 let), skupinu 96 pacientů s klíšťovou meningoencefalitidou tvořilo 63 mužů a 33 žen (věkový průměr 40,5 let, medián 41 let, věkové rozmezí 6-76 let).

Kontrolní skupinu tvořilo 107 pacientů, u kterých byla v roce 2005 provedena lumbální punkce z diagnostických důvodů (meningismus při febriliích,

séropozitivita lymeské borreliózy). Věkové složení této skupiny odpovídalo věkovému složení skupiny pacientů.

## Sledované parametry

Klinický průběh onemocnění byl sledován po dobu hospitalizace, po propuštění byli pacienti standardně ambulantně kontrolováni po 1, 3 a 6-ti měsících. Sledovány a analyzovány byly zejména tyto parametry:

- Příznaky onemocnění při přijetí (febrilie, známky meningeálního dráždění, neurologické postižení, subjektivní stížnosti), délka trvání onemocnění před přijetím, základní anamnestické údaje (věk, pohlaví, přítomnost interních onemocnění).
- Průběh onemocnění během hospitalizace (délka febrilní periody, subjektivní délka trvání příznaků, přítomnost neurologického postižení při dimisi, délka antiedematózní terapie, délka terapie glukokortikoidy, přítomnost komplikací onemocnění), výsledky laboratorních vyšetření krve (krevní obraz a diferenciální počet leukocytů, sedimentace za 30 min., C reaktivní protein, jaterní testy: bilirubin celkový, AST, ALT), mozkomíšního moku (vyšetření na Fuchs-Rosenthalově komůrce – počet lymfocytů a neutrofilních segmentů, glykorrhachie, laktát, celková bílkovina) a výsledky vyšetření zobrazovacími metodami (všichni EEG, CT jen v případech indikovaných ošetřujícím lékařem).
- Zdravotní stav pacientů při kontrolách – trvání neurologického postižení, přítomnost subjektivních obtíží, EEG (pokud byly při iniciálním vyšetření přítomny abnormality).

U kontrolní skupiny klinický stav sledován nebyl.

## Laboratorní metody

Odběr mozkomíšního moku lumbální punkcí byl proveden z diagnostických důvodů průměrně 2. den hospitalizace (v rozmezí 1.- 4. den). Pro detekci herpesvirové DNA byla zvolena metoda nested-PCR. DNA HSV1 a HSV2 byla amplifikována v jedné reakci, sekvence primerů byla převzata z (Cassinotti P. et al., 1996), VZV DNA byla amplifikována primery dle publikace (Liedtke W. et al., 1993) a HHV6 DNA dle práce (Yamanishi K. et al., 1993). Byl amplifikován úsek společný pro HHV6A a HHV6B.

Vzorky byly vyšetřovány vždy párově, při pozitivním výsledku byl test opakován. Použité metody pro průkaz HSV1 DNA, HSV2 DNA a VZV DNA byly validovány pomocí panelu vzorků získaných z Quality Control for Molecular Diagnostics, NIBSC.

## Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení klinického průběhu ve sledovaných parametrech (viz výše) bylo provedeno po ukončeném jednoletém sledování biostatistikem. Jako



statistické metody byly zvoleny Fisherův přesný test pro proměnné udávané ve formě škály a Mann-Whitneyův a Wilcoxonův test pro proměnné kontinuálního typu dat. Za statisticky významnou byla považována hladina významnosti 0,05 a nižší. Porovnáván byl klinický průběh onemocnění u pacientů s ověřenou neuroinfekcí bez průkazu DNA herpetického viru v MM a pacientů se zánětem CNS a záchytem DNA herpetického viru v MM.

## Studie č. 2 Výskyt HSV 1 DNA v mozkomíšním moku u pacientů s výsevem herpes labialis

Mozkomíšní mok 11 pacientů s purulentní meningitidou komplikovanou výsevem herpes labialis byl vyšetřen na přítomnost DNA virů HSV a varicella zoster (VZV). Vzorky MM (n=24) byly odebrány při kontrolních lumbálních punkcích.

### Laboratorní metody

Detekce DNA byla provedena výše uvedenou metodou nested PCR. Pozitivní výsledky ověřeny komerčním kitem (LightCycler HSV1/2 qual kit, Roche) metodou real-time PCR bez kvantifikace.

## **4. Výsledky**

### Studie č.1 Přítomnost DNA neurotropních herpetických virů u pacientů s nehnisavým zánětem CNS známé etiologie

Byla zavedena a validována metodika nested PCR pro detekci DNA virů HSV1, HSV2, VZV a HHV6 v mozkomíšním moku. Touto metodikou bylo vyšetřeno 280 pacientů (96 pacientů s klíčovou meningoencefalitidou, 77 pacientů s enterovirovou meningitidou a meningoencefalitidou a 107 pacientů v kontrolní skupině). Bylo identifikováno 13 pacientů s nehnisavým zánětem CNS známé etiologie a výskytem DNA herpetického viru v mozkomíšním moku viz Tabulka č.1:

DNA viru HSV1 byla nalezena u 2 pacientů, DNA viru HSV2 byla přítomna u 3 pacientů, DNA viru VZV u 4 pacientů, DNA viru HHV6 u 3 pacientů. U jednoho pacienta byla zachycena v MM současně DNA viru VZV a HHV6.

Neurologické postižení mělo vždy přechodný charakter a nález na EEG zahrnoval pouze abnormity difuzního charakteru. Nález ložiskového postižení na EEG, který je uváděn jako typický pro sporadickou nekrotizující encefalitidu, nebyl zaznamenán. Nikdo z pacientů neměl v předchorobí ani během hospitalizace výsev herpes simplex, herpes genitalis nebo herpes zoster. Klinický průběh onemocnění a výsledky laboratorních vyšetření byly podrobně sledovány

u 173 pacientů, z toho 96 pacientů s klíšťovou meningoencefalitidou a 77 s enterovirovou meningitidou a meningoencefalitidou

Průběh onemocnění byl srovnáván mezi skupinami s nehnisavým zánětem CNS známé etiologie a výskytem DNA herpetického viru v MM (n=13) a s nehnisavým zánětem CNS známé etiologie bez záchytu DNA herpetického viru v MM (n=160). Byl prokázán statisticky významný rozdíl v množství celkové bílkoviny v mozkomíšním moku a závažnosti EEG nálezu za hospitalizace. Statisticky nebyl prokázán rozdíl v klinickém stavu pacientů při přijetí, v průběhu hospitalizace, v cytologickém nálezu v mozkomíšním moku ani při následném sledování; viz Tabulka 2A; 2B; 2C.

*Tabulka 1. Klinické formy onemocnění u pacientů s nehnisavým zánětem známé virové etiologie a paralelním záchytem DNA herpetických virů v mozkomíšním moku.*

	Forma onemocnění	Věk (roky)	pohlaví	Neurologické postižení	Nález na EEG
VZV	Klíšťová meningitida	61	muž	Bez postižení	Normální nález
VZV	Klíšťová meningitida	32	muž	Přechodně třesy aker a bolesti hlavy	Mírná difuzní abnormita
VZV	Klíšťová meningoencefalitida	56	žena	Bez postižení	Mírná difuzní abnormita
VZV	Klíšťová meningoencefalo-myelitida	32	muž	Přechodně frustrní paraparéza DK	Mírná difuzní abnormita
VZV+ HHV6	Klíšťová meningoencefalitida	52	žena	Přechodně bolesti hlavy a porucha spánku	Mírná difuzní abnormita
HHV6	Klíšťová meningoencefalitida	36	muž	Titubace	Normální nález
HSV1	Klíšťová meningoencefalitida	35	muž	Bez postižení	Normální nález
HSV1	Enterovirová meningoencefalitida	12	žena	Bez postižení	Normální nález
HSV2	Enterovirová meningitida	14	žena	Přechodně bolesti hlavy	Normální nález
HSV2	Enterovirová meningitida	24	žena	Přechodně jemný třes aker	Mírná difuzní abnormita
HHV6	Enterovirová meningitida	6	muž	Bez postižení	Mírná difuzní abnormita
HHV6	Enterovirová meningitida	11	muž	Bez postižení	Mírná difuzní abnormita
HHV6	Enterovirová meningitida	6	muž	Bez postižení	Středně závažný difuzní nález

Tabulka 2A. Porovnání klinického průběhu laboratorního nálezu u skupin pacientů s nehnisavým zánětem známé virové etiologie s a bez paralelního záchytu DNA herpetických virů v mozkomíšním moku, výsledky statistického vyhodnocení kardinálních atributů

\*Vzhledem k povaze škály uveden medián

	Pacienti bez HV DNA		Pacienti s HV DNA		p
	Průměr (směrodatná odchylka)		Průměr (směrodatná odchylka)		
Věk (roky)	28.4	(18.5)	29	(18.2)	0.568
Délka hospitalizace (dny)	11.8	(4.2)	11.8	(3.3)	0.496
Délka onemocnění před hospitalizací (dny)	3.4	(3.4)	3.4	(3.1)	0.381
Délka trvání febrilií (dny)	2.3	(1.8)	2.5	(1.9)	0.25
Délka trvání subfebrilií (dny)	1.4	(1.2)	1.2	(0.9)	0.994
Délka trvání bolestí hlavy (dny)	3.8	(2.5)	3.7	(2.8)	0.636
Délka terapie manitolem (dny)	3.8	(1.3)	3.5	(0.9)	0.397
Den lumbální punkce od začátku onemocnění (dny)	5.1	(3.4)	4.1	(2.0)	0.938
Počet leukocytů v krevním obraze (10exp9/l)	11	(4.0)	10.1	(2.7)	0.933
C-reaktivní protein v krvi (mg/l)	13.7	(16.6)	15.4	(11.4)	0.376
Počet lymfocytů v MM (počet/3 v ml)	343.3	(1127.5)	202.5	(124.9)	0.714
Počet neutrofilních segmentů v MM (/3v ml)	130.2	(175.1)	139.2	(150.9)	0.893
Celková bílkovina v MM (g/l)	0.7	(0.3)	0.9	(0.3)	<b>0.013</b>
Závažnost EEG nálezu za hospitalizace (škála 1-4)		*2	*2		<b>0.047</b>

Tabulka 2B. Porovnání klinického průběhu a terapie za hospitalizace a při propuštění u skupin pacientů s nehnisavým zánětem známé virové etiologie s a bez paralelního záchytu DNA herpetických virů v mozkomíšním moku

Použité škály: 1 – příznaky slabě vyjádřeny, 2 – příznak plně vyjádřeny viz popis

\*Binární atributy: 0 – jev nepřítomen, 1 – jev přítomen

	Pacienti bez DNA herpesvirů		Pacienti s DNA herpesvirů		p	
Pohlaví pacientů	M	65,2 %	M	71,4 %	0.737 ns	
	Ž	34,8 %	Ž	28,6 %		
Cefalea při přijetí	0	6,7 %	0	0 %	0.174 ns	
	1	91 %	1	85,7 %		
	2	2,2 %	2	14,3 %		
Zvracení při přijetí	0	38,2 %	0	28,6 %	0.477 ns	
	1 – nauzea	1	22,5 %	1		42,9 %
	2 – zvracení	2	39,3 %	2		28,6 %
Febrilie při přijetí	0	0 %	0	0 %	0.164 ns	
	1 – do 38 °C	1	3,4 %	1		14,3 %
	2 – nad 38 °C	2	96,6 %	2		85,7 %
Další neurologické příznaky při přijetí	0	45,5 %	0	57,1 %	0.551 ns	
	1	54,4 %	1	42,9 %		
Meningeální dráždění při přijetí	0	30,3 %	0	28,6 %	0.727 ns	
	1	40,4 %	1	28,6 %		
	2	29,2 %	2	42,9 %		
Encefalitické příznaky při přijetí	0	34,8 %	0	42,9 %	0.856 ns	
	1	62,9 %	1	57,1 %		
	2	2,2 %	2	0 %		
Přítomnost parézy při přijetí	0	95,5 %	0	85,7 %	0.267 ns	
	1	4,5 %	1	14,3 %		
Antiedematózní terapie manitolem	0	7,9 %	0	0 %	0.441 ns	
	1	92,1 %	1	100 %		
Antiedematózní terapie glukokortikoidy	0	69,7 %	0	85,7 %	0.368 ns	
	1	30,3 %	1	14,3 %		
Přítomnost neurologických příznaků při propuštění	0	74,2 %	0	85,7 %	0.497 ns	
	1	25,8 %	1	14,3 %		

Tabulka 2C. Porovnání klinického průběhu při kontrolách po propuštění (1., 3. a 6. měsíc) u skupin pacientů s nehnisavým zánětem známé virové etiologie s a bez paralelního záchytu DNA herpetických virů v mozkomíšním moku.

\*Binární atributy: 0 – jev nepřítomen, 1 – jev přítomen

	Pacienti bez DNA herpesvirů	Pacienti s DNA herpesvirů	p
Přítomnost neurologických následků při kontrole 1. měsíc objektivně	N=74 0 45,9 % 1 54,1 %	N=4 0 50,0 % 1 50,0 %	0,874 ns
Přítomnost neurologických následků při kontrole 1. měsíc subjektivně	N=76 0 75,0 % 1 25,0 %	N=4 0 75,0 % 1 25,0 %	1 ns
Přítomnost neurologických následků při kontrole 3. měsíc objektivně	N=43 0 74,4 % 1 25,6 %	N=3 0 100 % 1 0 %	0,315 ns
Přítomnost neurologických následků při kontrole 3. měsíc subjektivně	N=38 0 78,9 % 1 21,1 %	N=3 0 66,7 % 1 33,3 %	0,621 ns
Přítomnost neurologických následků při kontrole 6. měsíc objektivně	N=35 0 82,9 % 1 17,1 %	N=2 0 100,0 % 1 0 %	0,522 ns
Přítomnost neurologických následků při kontrole 6. měsíc subjektivně	N=34 0 79,4 % 1 20,6 %	N=3 0 33,3 % 1 66,7 %	0,075 ns

Klinický průběh onemocnění u pacientů se záchytem DNA herpetických virů v MM byl benigní a žádný z těchto pacientů nebyl léčen antivirotiky. V kontrolní skupině byl zaznamenán pouze 1 výskyt HSV2 DNA.

## Studie č.2 Výskyt HSV 1 DNA v mozkomíšním moku u pacientů s výsevem herpes labialis

Podařilo se nám zachytit 1 výskyt HSV DNA v MM u pacientky s pneumokokovou purulentní meningitidou. Tato pacientka zároveň trpěla mnohočetným myelomem ve pokročilém stadiu (III B). Výsev herpes labialis se u ní objevil 6.den onemocnění a pozitivní vzorek MM byl ze 7. dne. Zobrazovacími metodami nebyly zastíženy změny typické pro sporadickou nekrotizující encefalitidu. Pacientka zemřela 59.den od počátku příznaků na septický šok vyvolaný směsnou infekcí multirezistentními gramnegativními bakteriemi.

### **5. Diskuse**

Diagnostika neuroinfekcí vyvolaných herpetickými viry se v současnosti opírá hlavně o záchyt DNA PCR diagnostikou (Boivin G., 2004; Smith C., Khanna R., 2013; Sigfrid L. et al., 2019). Vzhledem k malému množství virové DNA v mozkomíšním moku jsou metody nastaveny na vysokou citlivost a u virů HSV1, HSV2 a VZV v současnosti převládají metody s kvalitativním průkazem v designu multiplex PCR. Kvantitativní metody typu real-time PCR s CE-IVD certifikací jsou významně nákladnější. Proto jsme volili citlivou metodiku, která však má nevýhody možné kontaminace. Té jsme čelili výše uvedenými prostředky a za pozitivní záchyt jsme považovali pouze opakovaný pozitivní výsledek testu.

Naší studií se podařilo potvrdit existenci atypických záchyťů DNA herpetických virů při neuroinfekcích vyvolaných jiným agens. Protože imunitní dohled nad herpetickými viry je zajišťován hlavně buněčnou imunitou (Cunningham A. et al, 2006; Egan K. et al., 2013), shrnuto v (Zhang J. et al., 2017), která s věkem klesá, předpokládali jsme vyšší výskyt virové DNA u starších pacientů. Proto byl nález DNA herpetických virů u mladších pacientů poměrně překvapivý, zejména 2 záchyty HSV1. Nález může souviset s vyšší četností reaktivací těchto virů v této věkové kategorii. U HSV je známo, že četnost a rozsah reaktivací se snižuje s délkou doby od primoinfekce (Wald A., 2004). Relativně vysoký záchyt HHV6 v MM u malých dětí by mohl souviset s podobným chováním i u tohoto viru. Naopak, reaktivace VZV u pacientů mladšího věku je vzácným jevem, o čemž svědčí i velmi nízký výskyt herpes zoster u těchto pacientů (Oxman M. et al, 2005). To potvrzují i naše data. Záchyt DNA viru VZV ve skupině pacientů s klíšťovou meningoencefalitidou byl poměrně vysoký (v našem souboru dosáhl 5 %), v jednom případě se dokonce

podalil společný záchyt VZV a HHV6 DNA a byl nulový ve skupině pacientů s enterovirovou meningitidou. Bezpříznakové záchyty viru VZV v krvi již byly popsány (Mainka C. et al, 1998; Levin M., 2014), ale v MM byly spojovány s neuritidami bez výsevu herpes zoster (Gilden D. et al., 2009; Persson A. et al., 2009).

Dynamika perzistence virové DNA v mozkomíšním moku při neuroinfekci či reaktivaci viru v CNS není příliš známá. Údaje jsou pouze u velmi malých skupin léčených pacientů se sporadickou nekrotizující encefalitidou, kdy je virus HSV v mozkomíšním moku detekován i 5 dní od zahájení terapie (Raschilas F. et al, 2002; Schloss L., et al., 2009; Ramirez K. et al., 2018), u infekcí novorozenců je persistence HSV DNA spojena se špatnou prognózou onemocnění (Mejías A. et al., 2009; Otto W. et al., 2016). Údaje u ostatních virů chybí, zejména pro neetičnost provádění lumbální punkce u pacientů, jejichž klinický stav se již upravil. Zajímavé proto byly záchyty HSV2 DNA u 3 pacientů, z nichž pouze jedna pacientka (současně léčena pro gonoreu) měla anamnestický údaj o výsevech herpes genitalis bez recentního výsevu. Reaktivace herpetických virů jsou běžné i u imunokompetentních jedinců a DNA virů HHV6 i VZV jsou episodicky detekovatelné v krvi bez klinických příznaků (Caserta M. et al., 2004; Mainka C. et al., 1998; Levin M., 2014).

Reaktivace v kompartmentu nervové tkáně jsou zřejmě vzácnější, jak vyplývá ze studií o efektivitě PCR vyšetřování mozkomíšního moku. Tyto studie potvrzují téměř nulový záchyt herpetických virů u pacientů bez zánětlivého cytologického nálezu v mozkomíšním moku (Simko J. et al, 2002; Tang Y et al., 1999). To se podařilo prokázat i v naší kontrolní skupině 107 pacientů.

Statistická analýza prokázala vyšší hodnoty celkové bílkoviny v mozkomíšním moku a mírně závažnější EEG nález při prvním vyšetření u pacientů s přítomností DNA herpetických virů v MM. Hodnoty celkové bílkoviny u pacientů s DNA herpetického viru nebyly výrazně vyšší (0,7 g/l versus 0,9 g/l, normální hodnoty pro dospělého 0,4-0,6 g/l), pohybovaly se v hodnotách obvyklých pro nehnisavé záněty CNS a rozhodně by jich nešlo použít jako indikátoru přítomnosti DNA herpetických virů. Abnormity na prvním EEG nálezu u těchto pacientů také nebyly hodnoceny jako těžké a se nejednalo o ložiskové nálezy typické pro sporadickou nekrotizující encefalitidu (viz Tabulka 1) průběh nemoci i rekonvalescence se nelišil vůbec. To ukazuje, že přítomnost virové DNA v MM je spíše důsledkem sekundární reaktivace virů vyvolané přítomností zánětlivých faktorů v CNS nebo přechodným oslabením imunitního dozoru nad latentní infekcí, a že nemá etiologický vztah k probíhajícímu onemocnění. Ve studii č.2 se podařilo unikátně zachytit HSV1 DNA v MM u pacientky s lokálním výsevem herpes labialis bez morfologických známek postižení CNS typickém pro sporadickou nekrotizující encefaliditu. Pacientka byla silně imunokompromitovaná kvůli mnohočetnému myelomu ve stadiu IIIB,



komplikovanému pneumokokovou purulentní meningitidou, kterou provází významná porucha hematoencefalické bariéry.

Protože je metoda PCR v současnosti hlavním diagnostickým vodítkem, mohou tyto nálezy činit diagnostické obtíže zejména při záchytech HSV1 DNA. Zde je byt' i benigní průběh onemocnění absolutní indikací k zahájení terapie antivirotky, protože onemocnění může progredovat do nekrotizující encefalidity. Nález HHV6 DNA by se měl vždy posuzovat v souvislosti se stavem imunity pacienta včetně anamnézy a absencí jiné možné etiologie vzhledem k risk-benefitu léčby (nephrotoxicita, myelosuprese). Zde je vhodné doplnit kontrolní lumbální punkci a potvrdit etiologii přítomností intratékální syntézy specifických protilátek, zejména u imunokompromitovaných. Také je nutno zvažovat možnost integrace HHV6 do genomu v zárodečné linii, která zkrusluje DNA diagnostiku a lze ji vyloučit PCR vyšetřením bezkrevné tkáň (např. nehtů nebo vlasových kořínků) (Ward K. et al., 2007).

## **6. Závěry**

Diagnostika herpetických virů prodělavá v posledních letech příklon k molekulárně biologickým metodám. Náš výzkum se soustředil na to, jakou výpovědní hodnotu má záchyt herpesvirové DNA v mozkomíšním moku. Atypické nálezy DNA herpetických virů v mozkomíšním moku souvisejí s jejich reaktivací v tomto kompartmentu. Jev není raritní a v našem souboru imunokompetentních pacientů s virovou meningitidou/meningoencefalitidou jiné než herpesvirové etiologie dosáhl 7,5 %. U pacientů s klíčovou meningoencefalitidou se jednalo o 7 případů z 96 (7,3 %) a nejčastěji byla detekována VZV DNA, u pacientů s enterovirovou meningitidou/meningoencefalitidou u 6ti případů ze 77 (7,8 %) a nejčastěji byla detekována HHV6 DNA. Zachytili jsme i současnou přítomnost DNA dvou herpetických virů. Reaktivace nemusí zhoršovat klinický průběh onemocnění a v našem souboru byl klinický průběh onemocnění u pacientů se záchytem DNA herpetických virů i bez terapie antivirotky benigní. K reaktivaci dochází zřejmě hlavně při zánětech, což potvrzuje minimální záchyt DNA herpetických virů u pacientů bez zánětlivého cytologického nálezu v mozkomíšním moku. Naopak symptomatická reaktivace HSV1 na periferii u pacientů s purulentní meningitidou vedla k detekci HSV1 DNA v mozkomíšním moku pouze u 1 pacientky z 11 testovaných. Tato pacientka byla významně imunokompromitovaná.

Metody založené na amplifikaci nukleových kyselin jsou v současnosti hlavním diagnostickým vodítkem, proto mohou záchyty DNA herpetických virů v mozkomíšním moku činit diagnostické obtíže. Tyto výsledky je nutné vždy interpretovat s ohledem na klinický stav pacienta, epidemiologickou anamnézu a

výsledky dalších vyšetření. V případě nutnosti je třeba testy opakovat s časovým odstupem k posouzení dynamiky.

## 7. Použitá literatura

1. Boivin, G. (2004). Diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *Herpes*, 11, p. 48A-56A.
2. Caserta, M., McDermott, M., Dewhurst, S., Schnabel, K., Carnahan, J., Gilbert, L., Hall, C. (2004). Human herpesvirus 6 (HHV6) DNA persistence and reactivation in healthy children. *Journal of Pediatrics*, 145(4), p. 478-484.
3. Cassinotti, P., Mietz H., Siegl G. (1996). Suitability and clinical application of a multiplex nested PCR assay for the diagnosis of herpes simplex virus infections. *Journal of Medical Virology* 50 (1): p. 75-81.
4. Cinque, P., Bossolasco, S., Lundkvist, Å. (2003). Molecular analysis of cerebrospinal fluid in viral diseases of the central nervous system. *Journal of Clinical Virology*, 26(1), p.1-28.
5. Cunningham, A., Diefenbach, R., Miranda-Saksena, M., Bosnjak, L., Kim, M., Jones, C., Douglas, M. (2006). The cycle of human herpes simplex virus infection: Virus transport and immune control. *Journal of Infectious Diseases*. 194 Suppl 1, p. S11-18
6. Davies, N., Brown, L., Gonde, J., Irish, D., Robinson, R., Swan, A., Muir, P. (2005). Factors influencing PCR detection of viruses in cerebrospinal fluid of patients with suspected CNS infections. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 76(1), p. 82-87.
7. De Biasi, R., Tyler, K. (2004). Molecular methods for diagnosis of viral encephalitis. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), p. 903-925.
8. Egan, K., Wu, S., Wigdahl, B., Jennings, S. (2013). Immunological control of herpes simplex virus infections. *Journal of NeuroVirology*, 19(4), p. 328-345.
9. Gildea, D., Cohrs, R., Mahalingam, R., Nagel, M. (2009). Varicella zoster virus vasculopathies: diverse clinical manifestations, laboratory features, pathogenesis, and treatment. *The Lancet Neurology*, 8(8), p. 731-740.
10. Chan, P., Ng, H., Hui, M., Ip, M., Cheung, J., Cheng, A. (1999). Presence of human herpesviruses 6, 7, and 8 DNA sequences in normal brain tissue. *Journal of Medical Virology*, 59(4), p. 491-495.
11. Levin, M. (2014). Varicella-zoster virus and virus DNA in the blood and oropharynx of people with latent or active varicella-zoster virus infections. *Journal of Clinical Virology*, 61(4), p. 487-495.
12. Liedtke, W., Opalka, B., Zimmermann, C., Lignitz, E. (1993). Age distribution of latent herpes simplex virus 1 and varicella-zoster virus genome in human nervous tissue. *Journal of the Neurological Sciences*, 116(1), p. 6-11.
13. Mainka, C., Fuß, B., Geiger, H., Höfelmayr, H., Wolff, M. (1998). Characterization of viremia at different stages of Varicella-zoster virus infection. *Journal of Medical Virology*, 56(1), p. 91-98.

14. Mejías, A., Bustos, R., Ardura, M., Ramírez, C., Sánchez, P. (2009). Persistence of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid of neonates with herpes simplex virus encephalitis. *Journal of Perinatology*, 29(4), p. 290-296.
15. O'Sullivan, C., Aksamit, A., Harrington, J., Harmsen, W., Mitchell, P., Patel, R. (2003). Clinical Spectrum and Laboratory Characteristics Associated With Detection of Herpes Simplex Virus DNA in Cerebrospinal Fluid. *Mayo Clinic Proceedings*, 78(11), p. 1347-1352.
16. Otto, W., Myers, A., Larussa, B., Kimberlin, D., Jackson, M. (2016). Clinical and Laboratory Markers and Risk for Cerebrospinal Fluid Herpes Simplex Virus (HSV) Deoxyribonucleic Acid Persistence HSV in Neonatal Disseminated and Central Nervous System Infection. *Open Forum Infectious Diseases*, 3 (suppl\_1).
17. Oxman, M., Levin, M., Johnson, G., Schmader, K., Straus, S., Gelb, L., Silber, J. (2005). A vaccine to prevent herpes zoster and postherpetic neuralgia in older adults. *New England Journal of Medicine*, 352(22), p. 2271-2284.
18. Persson, A., Bergström, T., Lindh, M., Namvar, L., Studahl, M. (2009). Varicella-zoster virus CNS disease-Viral load, clinical manifestations and sequels. *Journal of Clinical Virology*, 46(3), p. 249-253.
19. Ramirez KA, C. A. (2018). Comparing molecular quantification of herpes simplex virus (HSV) in cerebrospinal fluid (CSF) with quantitative structural and functional disease severity in patients with HSV encephalitis (HSVE): Implications for improved therapeutic approaches. *Journal of clinical virology*, 107, p. 29-37.
20. Raschilas, F., Wolff, M., Delatour, F., Chaffaut, C., De Broucker, T., Chevret, S., Coudray, C. (2002). Outcome of and prognostic factors for herpes simplex encephalitis in adult patients: Results of a multicenter study. *Clinical Infectious Diseases*, 35(3), p. 254-260.
21. Schloss, L., Falk, K., Skoog, E., Brytting, M., Linde, A., Aurelius, E. (2009). Monitoring of herpes simplex virus DNA types 1 and 2 viral load in cerebrospinal fluid by real-time PCR in patients with herpes simplex encephalitis. *Journal of Medical Virology*, 81(8), p.1432-1437.
22. Sigfrid, L., Perfect, C., Rojek, A., Longuere, K., Lipworth, S., Harriss, E., Horby, P. (2019). A systematic review of clinical guidelines on the management of acute, community-acquired CNS infections. *BMC medicine*, 17(1), p. 170.

23. Simko, J., Caliendo, A., Hogle, K., Versalovic, J. (2002). Differences in laboratory findings for cerebrospinal fluid specimens obtained from patients with meningitis or encephalitis due to herpes simplex virus (HSV) documented by detection of HSV DNA. *Clinical Infectious Diseases*, 35(4), p. 414-419.
24. Smith, C., Khanna, R. (2013). Immune Regulation of Human Herpesviruses and Its Implications for Human Transplantation. *American Journal of Transplantation*, 13(s3), p. 9-23.
25. Šoltysová, K., Bronská, E., Pícha, D., Marešová, V. (2005). Herpes simplex virus – causative agent, or innocent bystander? *Clinical Microbiology and Infection* 11, Supplement 2., p. 502.
26. Theil, D., Horn, A., Derfuss, T., Strupp, M., Arbusow, V., Brandt, T. (2004). Prevalence and distribution of HSV-1, VZV, and HHV-6 in human cranial nerve nuclei III, IV, VI, VII, and XII. *Journal of Medical Virology*, 74(1), p. 102-106.
27. Wald, A. (2004). Herpes simplex virus type 2 transmission: Risk factors and virus shedding. *Herpes*, 11, p. 130A-137A.
28. Ward, K., Hoe, N., Thiruchelvam, A., Atkinson, C., Clark, D. (2007). Human herpesvirus 6 DNA levels in cerebrospinal fluid due to primary infection differ from those due to chromosomal viral integration and have implications for diagnosis of encephalitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(4), p. 1298-1304.
29. Yamanishi, K., Kondo, K., Nagafuji, H., Hata, A., Tomomori, C. (1993). Association of Human Herpesvirus 6 Infection of the Central Nervous System with Recurrence of Febrile Convulsions. *Journal of Infectious Diseases*, 167(5), p.1197-1200.
30. Zhang, J., Liu, H., Wei, B. (2017). Immune response of T cells during herpes simplex virus type 1 (HSV-1) infection. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 18(4), p. 277-288.

## Seznam zkratk

ALT	-	alaninaminotransferáza
AST	-	aspartátaminotransferáza
CE-IVD	-	"Conformité Européenne" in vitro diagn
CMV	-	cytomegalovirus, též uváděn jako HHV5
CNS	-	centrální nervová soustava
CT	-	výpočetní tomografie
DNA	-	deoxyribonukleová kyselina
EBV	-	virus Epstein – Baarové, též uváděn jako HHV4
EEG	-	electroencephalografie
HHV6	-	Lidský herpetický virus 6 (bez rozlišení typu)
HHV6A	-	Lidský herpetický virus 6 typ A
HHV6B	-	Lidský herpetický virus 6 typ B
HIV	-	virus lidské imunitní nedostatečnosti
HSV1	-	Herpes simplex virus typ 1
HSV2	-	Herpes simplex virus typ 2
MM	-	mozkomíšní mok
NAAT	-	nucleic acid amplification test
VZV	-	varicella zoster virus, též uváděn jako HHV3

## Seznam publikací doktoranda

### Publikace in extenso, které jsou podkladem disertace

#### Publikace s impact factorem

Labská, K., Roubalová, K., Pícha, D., & Marešová, V. (2015, 7 1). Presence of herpesvirus DNA in cerebrospinal fluid of patients with tick-borne encephalitis and enteroviral meningoencephalitis. *Journal of Medical Virology*, 87(7), p. 1235-1240.

IF =2.021

Krbkova, L., Holečková, K., Blechová, Z., Marešová, V., Labská, K., Štroblová, H., & Bednářová, J. (2014). Nález v mozkomíšním moku u dětí s akutním paretickým postižením. *Česká a Slovenská neurologie a neurochirurgie*, roč. 77, č. 4, p. 496-500

IF=0.203

#### Publikace bez impact factoru

Holub, M., Labská, K., & Roubalová, K. (2008). Recurrent genital herpes. *Klinická Mikrobiologie a Infekční Lekarství*, 14(2), 52-59. Trios spol. s.r.o

Šoltysová K., Marešová V.: Enterovirové nákazy. *Postgraduální medicína*.3, s.298-302,2006

Holub M, Arientová S, Rozsypal H, Labská K, Mašata J, Kacerovský M, Zach J. Doporučený postup pro diagnostiku a léčbu genitálního herpesu u žen. Datum vydání: 8. 12. 2019. [cit. 7.9.2020]. Dostupné z: <https://www.infekce.cz/DPHSV2-19.htm>

#### Přednášky s abstraktem

Šoltysová K., Sojková N., Bronská E., Blechová Z., Marešová V.: Broken seasonality – winter outbreak of enteroviral meningoencephalitis in children. Book of Abstracts 4th World Congress of the World Society for Paediatric Infectious Diseases – WSPID, Warsaw, Poland, 2005

Šoltysová K., Sojková N., Matyášová I., Blechová Z., Marešová V.: RT – PCR v diagnostice enterovirových meningitid, aneb proč nehlídat vnoučata. Sborník přednášek Český kongres o infekčních chorobách, Monínec, Česká republika, 2005

Šoltysová K., Pícha D., Roubalová K., Marešová V.: Nález DNA herpetických virů v mozkomíšním moku – náhoda nebo neuroinfekce?. Abstrakta IX. Slovensko – Český kongres o infekčních chorobách, Košice, Slovensko, 2005

## Postery s abstraktem

Labská K., Roubalová K., Pícha D., Marešová V. (2015).:Viral infections of the central nervous system in patients suffering from tick-borne encephalitis and enteroviral meningitis carry herpes virus DNA in cerebrospinal fluid. [cit. 7.9.2020]. Dostupné z: [https://www.escmid.org/escmid\\_publications/escmid\\_elibrary](https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary)

Šoltysová, K., Smíšková, D., Pícha, D., Sojková N., Podojilová, M., Roubalová, K., Marešová, V. (2007). Neuroborreliosis and tick-borne encephalitis – same vector, but different clinical course. *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 13, Issue s1, p.420

Šoltysová K., Marešová V., Roubalová K., Sojková N., Roháčová H.: Probable subclinical reactivation of herpesviruses during enteroviral meningitis. *International Journal of Infectious Diseases* 10, Supplement 1, 2006

Šoltysová K., Roubalová K., Pícha D., Marešová V., Roháčová H.: Subclinical reactivation of VZV in patients with tick borne encephalitis. *Clinical Microbiology and Infection* 12, Supplement 4, 2006

Šoltysová K., Bronská, E., Pícha, D., & Marešová, V. (2005). Herpes simplex virus – causative agent, or innocent bystander? *Clinical Microbiology and Infection* 11, Supplement 2., p.502

Šoltysová K., Pícha D., Marešová V.: IS the tick borne encephalitis really mild in children? Comparison between tick borne encephalitis and enteroviral meningoencephalitis. *Book of Abstracts 10th International Conference on Lyme Borreliosis and Other Tick – Borne Diseases*, Vienna, Austria, 2005

Krbková L., Holečková K., Blechova Z., Marešová V., Šoltysová K.: The consequence of the aetiological agent in the clinical course of parietic involvement in children. *Clinical Microbiology and Infection* 10, Supplement 3, 2004

Blechová Z., Krbková L., Holečková K., Marešová V., Šoltysová K.: Parietické komplikace onemocnění u dětí. *Sborník abstrakt 6. českého pediatrického kongresu s mezinárodní účastí*, Ostrava, ČR, 2004

Šoltysová K., Pícha D., Marešová V.: Výskyt herpetických virů u serózních zánětů CNS. *Sborník abstrakt studentské vědecké konference 2.LF, Praha*, 2004



## Publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace

### S impact factorem

Zajíček, R., Hrbáčková, H., Šuca, H., Pafčuga, I., Labská, K., & Smula, M. (2018). A combination of herpes virus infection (Hsv-1, hhv-6) and multi-resistant bacterial infection in a severely burned pediatric patient – a case report. *Acta Chirurgiae Plasticae*, 60, 2-4, p. 62-67

$IF=0,26$

Limberková, R., Havlíčková, M., Smíšková, D., Labská, K., Herrmannová, K., Procházková, J., Marešová, V. (2016). Differential diagnosis of the viral etiology of suspected mumps in a population with high vaccine coverage. *Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie*, 65(4), p. 220-224.

$IF=0,5$

Labská, K., Plodková, H., Pumannová, M., & Sensch, K. (2018). Antiviral activity of propolis special extract GH 2002 against Varicella zoster virus in vitro. *Pharmazie*, 73(12), p.733-736

$IF= 0,820$

Labská K., Špačková M., Daniel O., Včelák J., Vlasáková V., Černý T., Gelbíčová T., Florianová M., Karpíšková R., Gavačová D., Štefkovičová M., Orliková H. A cross-border Czech and Slovak outbreak of Salmonella Bareilly cases confirmed by whole genome sequencing within 2017-2018. *Eurosurveillance* – přijato k publikaci

$IF= 6.454$

### Bez impact factoru

Rozsypal H., Blechová Z., Krbková L., Labská K. (2018) Doporučený postup profylaxe a léčby varicely u těhotných a novorozenců. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*; 24(4), p. 121–128

Holub M, Arientová S, Rozsypal H, Labská K., Mašata J, Kacerovský M, Zach J. (2019) Doporučený postup pro diagnostiku a léčbu genitálního herpesu u žen. Datum vydání: 8. 12. 2019. [cit. 7.9.2020]. Dostupné z: <https://www.infekce.cz/DPHSV2-19.htm>

Sedláček D, Petroušová L, Labská K. (2020) Doporučený postup prevence a léčby onemocnění vyvolaných virem varicely a zosteru (VZV) u osob s imunodeficity. Datum vydání: 10. 2. 2020. [cit. 7.9.2020]. Dostupné z: <https://www.infekce.cz/DPVZV-IDS-20.htm>

## Poster s abstraktem

Pumannová M., Labská K., Stonová C., Gkalpakiotis S. (2019) Systemic aciclovir resistant HSV-1 infection in patient suffering from Darier's disease. [cit. 7.9.2020]. Dostupné z: <https://escv2019.com/index.php?id=7610>

Labská K., Marejková M., Šebestová H., Bielaszewska M., Bohuslavová P., Orliková H. (2019) Evaluation of surveillance system for enterohaemorrhagic E. coli 2013-2017, Czech Republic. ESCAIDE 2019 <https://www.escaide.eu/sites/default/files/documents/ESCAIDE-abstract-book-2019.pdf>

Bohuslavová P., Labská K., Šebestová H., Orliková H., Bielaszewska M., Marejková M. (2019) Contribution of E. coli O111 pathotypes to the aetiology of gastrointestinal disorders in children under 2 years of age in the Czech Republic (2013-2017). ESCAIDE 2019 [cit. 7.9.2020] Dostupné z: <https://www.escaide.eu/sites/default/files/documents/ESCAIDE-abstract-book-2019.pdf>

Labská K., Špačková M., Dědičová D., Daniel O., Karpíšková R., Orliková H. (2018) Countrywide outbreak of salmonellosis (Salmonella Bareilly) confirmed by whole genome sequencing in the Czech Republic, 2017-2018, ESCAIDE 2018 [cit. 7.9.2020] Dostupné z: [https://www.escaide.eu/sites/default/files/documents/book\\_escaide2018Rev20190525.pdf](https://www.escaide.eu/sites/default/files/documents/book_escaide2018Rev20190525.pdf)

Labská K., Marinenko E., Matějková E., Příbylová H., Pumannová M., Šuca H., Zajíček R. (2016) Frequent HHV6 DNA positivity in children with severe burn injury. ESCV 2016, *Journal of Clinical Virology*. 82, Supplement, p. S100



